

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A) 平3-239958

⑬ Int. Cl.³
G 01 N 27/327

識別記号 庁内整理番号

⑭ 公開 平成3年(1991)10月25日

7235-2G G 01 N 27/30
7235-2G

3 5 3 Z
3 5 3 B※

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全7頁)

⑮ 発明の名称 生化学測定装置

⑯ 特 願 平2-36648

⑰ 出 願 平2(1990)2月17日

⑱ 発 明 者 遠 藤 英 樹 京都府京都市下京区中堂寺南町17番地 サイエンスセンタ
ービル 株式会社オムロンライフサイエンス研究所内
⑱ 発 明 者 中 嶋 聡 京都府京都市下京区中堂寺南町17番地 サイエンスセンタ
ービル 株式会社オムロンライフサイエンス研究所内
⑱ 発 明 者 荒 井 真 人 京都府京都市下京区中堂寺南町17番地 サイエンスセンタ
ービル 株式会社オムロンライフサイエンス研究所内
⑱ 発 明 者 滝 澤 耕 一 京都府京都市下京区中堂寺南町17番地 サイエンスセンタ
ービル 株式会社オムロンライフサイエンス研究所内
⑲ 出 願 人 オムロン株式会社 京都府京都市右京区花園土堂町10番地
⑳ 代 理 人 弁理士 中村 茂信

最終頁に続く

明 細 書

1. 発明の名称

生化学測定装置

2. 特許請求の範囲

(1) 酵素電極と、この酵素電極の出力に基づいて試料中の基質濃度を定量する定量手段と、この定量手段の定量結果を表示する表示手段とを、本体に設けてなる生化学測定装置において、

前記酵素電極は、電極支持基材上に膜状に作用電極及び対照電極が形成され、これら作用電極及び対照電極が固定化酵素膜で一体に被覆されており、この酵素電極は、前記本体に着脱自在に設けられる保持部材に内蔵され、この保持部材には、少なくとも前記作用電極の感応部を露出させる開口部が設けられ、前記作用電極及び対照電極と前記定量手段とを電気的に接続するコネクタを前記本体に設けたことを特徴とする生化学測定装置。

3. 発明の詳細な説明

(イ) 産業上の利用分野

この発明は、酵素電極を用いた生化学測定装置

に関し、詳しく言えば、簡易に測定を行える生化学測定装置に関する。

(ロ) 従来の技術

従来、酵素電極を用いた生化学測定装置としては、第8図(a)及び第8図(b)に示すものが知られている。第8図(a)は、いわゆるディスクリット方式と呼ばれるもので、酵素電極34を配備した反応セル33内に、緩衝液容器31よりの緩衝液をポンプ32で給排水し、この反応セル33中に、試料をマイクロピペット(図示せず)等で注入して測定を行う。酵素電極34よりの出力は、測定本体部35で演算処理を施されて、その結果得られた基質濃度は、表示部35aに表示される。

一方、第8図(b)は、いわゆるフロー方式と呼ばれるもので、フローライン37に酵素電極34を配備してなるものである。このフローライン37には、ポンプ32により、オートサンプラー36からの試料が、緩衝液容器31からの緩衝液で希釈されて流される。フローライン37より流出した液は、図示しない廃液ボトル内に捨てられる。

酵素電極 3 4 の出力は、先と同様測定本体部 3 5 で処理される。

上記いずれの方式の生化学測定装置においても、試料の希釈、測定、装置の校正及び洗浄がほぼ自動化されているが、以下に列挙する問題点があった。

- ・装置が大型かつ高価である。
- ・測定に際して多量の緩衝液が必要で、ランニングコストが高い。
- ・酵素電極に装着されている酵素膜の交換が煩雑であり、その保守管理も不可欠である。
- ・多量の試料が必要である。
- ・電源投入から測定開始に至るまでの時間（ウォーミングアップ）が長い。
- ・試料の希釈率が変動することが多く、測定精度の劣化が生じる。

そこで、近年より簡易に測定を行える構成の生化学測定装置が提案されている〔第 7 図(a)(b)参照〕。この生化学測定装置 2 1 は、ケース 2 2 に表示器 2 3 及び操作部 2 4 を設けるとともに、着脱可能

なカートリッジ 2 5 を設けている。このカートリッジ 2 5 には、固定化酵素膜（以下単に酵素膜という）2 6 が支持されており、カートリッジ 2 5 を、ケース 2 2 のカートリッジ装着部 2 7 に装着した時に、このカートリッジ装着部 2 7 に露出している下地電極 2 8 に、酵素膜 2 6 が密着する。この状態で酵素膜 2 6 上にマイクロビペット 2 9 等で試料、標準液（校正用）、緩衝液（洗浄用）を滴下して、測定を行う。

（ハ）発明が解決しようとする課題

上記従来の生化学測定装置 2 1 は、小型、廉価であり、またメンテナンスも不要である反面、以下に列挙する問題点を有している。

- ①下地電極 2 8 と酵素膜 2 6 との密着度が測定結果に反映し、測定精度の劣化をもたらす。
- ②そこで酵素膜 2 6 を下地電極 2 8 に装着する時に、高い密着度を得ようとして、酵素膜 2 6 を破損してしまう事故が頻発する。
- ③また、酵素膜 2 6 交換時には、下地電極 2 8 表面に液を滴下するなど煩雑な作業が必要であり、

また交換後はしばらく電極出力が安定せず、測定可能となるまでに時間がかかる。

- ④下地電極 2 8 表面は、酵素膜 2 6 との密着性を高めるため、凸面に加工しなければならず、製造コストがかかる。
- ⑤下地電極 2 8 表面に直接触れて拭き取る操作があり、下地電極 2 8 表面に傷がついて破損しやすい。
- ⑥下地電極 2 8 が破損した場合に、下地電極 2 8 がケース 2 2 と一体となっているため交換が困難である。

この発明は、上記に鑑みなされたものであり、操作が簡単で安定した測定精度を有する生化学測定装置の提供を目的としている。

（ニ）課題を解決するための手段

上記課題を解決するため、この発明の生化学測定装置は、酵素電極と、この酵素電極の出力に基づいて試料中の基質濃度を定量する定量手段と、この定量手段の定量結果を表示する表示手段とを、本体に設けてなるものにおいて、前記酵素電極は、

電極支持基材上に膜状に作用電極及び対照電極が形成され、これら作用電極及び対照電極が固定化酵素膜で一体に被覆されており、この酵素電極は、前記本体に着脱自在に設けられる保持部材に内蔵され、この保持部材には、少なくとも前記作用電極の感応部を露出させる開口部が設けられ、前記作用電極及び対照電極と前記定量手段とを電気的に接続するコネクタを前記本体に設けたことを特徴とするものである。

（ホ）作用

この発明の生化学測定装置においては、作用電極及び対照電極が固定化酵素膜で一体に被覆されているため、作用電極及び対照電極と固定化酵素膜との密着度が安定しており、測定精度が劣化することなく、再現性に優れた測定を行うことができる。また、酵素電極交換から測定可能となるまでの時間も短い。

一方、この発明の生化学測定装置では、酵素電極全体が交換されることになるから、固定化酵素膜のみ交換することにより生じていた固定化酵素

膜の破損を防止できると共に、作用電極、対照電極表面に触れることもないので、これら電極の破損も防止できる。また、酵素電極は保持部材ごと交換され、作用電極及び対照電極と定量手段との接続もコネクタで行われるから、交換操作自体も極めて容易となる。

(へ) 実施例

この発明の一実施例を第1図乃至第6図に基づいて以下に説明する。

この実施例は本発明をグルコース濃度測定に適用したものであり、第1図は、実施例生化学測定装置1の外観斜視図を示している。2は、本体ケースであり、その上面には、表示器例えば液晶表示器(LCD)3、電源ボタン4a、モード切替ボタン5a、測定ボタン6aが配備されている。

本体ケース2は、保持部材7を備えており、装着部2aに着脱自在に装着される。保持部材7内には、後述の酵素電極10が封入されており、保持部材挿入端部7a上に、酵素電極接続端部10aが露出している。保持部材7を装着部2aに装

4図を参照しながら以下に説明する。11は、プラスチックフィルム等の絶縁材よりなる電極支持基材である。この電極支持基材11上には、1対の作用電極12、対照電極13が形成される。これら電極12、13はスパッタリング、真空蒸着、イオンプレーティング等の手段を適用して、白金(Pt)を膜形成したものである。なお、作用電極、対照電極を構成する導体は白金に限定されるものではなく、形成する手段も、めっきや箔を貼着するなど適宜変更可能である。

電極支持基材11上には、接続端部10aを除いて絶縁保護膜14が形成され、作用電極12、対照電極13が、それぞれ感応部12a、13a、接続部12b、13bを除いて被覆される。絶縁保護膜14には、感光性ポリイミド樹脂を用い、ホトリソグラフィーを適用して、パターン付けを行う。

絶縁保護膜14上には、固定化酵素膜15が形成される。この固定化酵素膜15は、ナフィオン層15a、酵素層15b、ナフィオン層15cを

着する時、この保持部材挿入端部7aが開口2bより本体ケース2内に挿入され、コネクタ9(第3図参照)により、酵素電極10が本体ケース2内部の回路に接続される。保持部材7には、開口部8が設けられ、固定化酵素膜15が露出する。

第5図は、実施例生化学測定装置の回路構成を説明するブロック図である。酵素電極10は、電極駆動回路16に接続され、所定電圧(この実施例では、0.55V)を印加され駆動される。酵素電極10の出力は、電流/電圧(I/V)変換回路17で電圧信号に変換され、さらにアナログ/デジタル(A/D)変換器18でデジタル信号に変換され、CPU19に取り込まれる。CPU19は取り込んだ信号に、メモリ20内に格納されている検量線(後述)を適用して、試料中のグルコース濃度を定量する。こうして得られたグルコース濃度は、LCD3に表示される。CPU19には、前記ボタン4a、5a、6aで操作されるスイッチ4、5、6も接続されている。

次に酵素電極10の詳細を、主に第2図乃至第

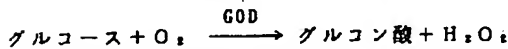
積層した三層構造を有している。ナフィオン(Nafion: 米国デュポン社登録商標)は、陽イオン交換性高分子であり、市販の5%溶液(溶媒: エチルアルコール)を用いて容易に膜形成できる。この実施例では、スピンコートにより膜形成を行っている。

酵素層15bも、酵素液をスピンコートして形成される。酵素液は、0.1mol/Lリン酸緩衝液(pH6.0)に、グルコースオキシダーゼ(GOD)10%、牛血清アルブミン(BSA)7.5%及びグルタルアルデヒド0.5%の濃度になるように調製したものである。

こうして得られた酵素電極10は、前記保持部材7内に挿入され、接着剤等で封止される。固定化酵素膜15の、電極感応部12a、13a直上の部分は、開口部8より外部に露出している。一方、酵素電極接続端部10aは、保持部材挿入端部7a上に露出する。保持部材7を本体ケース2に装着した時に、コネクタ9の接点9a(一方のみ図示)が、作用電極接続部12b、対照電極接

統部13bにそれぞれ圧接する(第3図参照)。

酵素電極10の固定化酵素膜15に試料が接すると、固定化酵素膜15内で以下の反応が生じる。



この時生成した過酸化水素(H_2O_2)は、作用電極感応部12aで酸化され、この酸化電流が電極出力となる。この電極出力から化学量論的に試料のグルコース濃度を知ることができる。第6図は、室温において、いくつかのグルコース濃度(mg/dl)に対する電極出力(nA)をプロットしている。これらプロットされた点を結んで検量線とすることができ、この検量線が前記メモリ20に格納されている。

なお、酵素電極10は、保持部材7に一体に封入した状態で、使用者に供給されることになる。

次に、実施例生化学測定装置1の使用方法を説明する。まず、電源ボタン4aを押して電源を投入し、モード切替ボタン5aを押し、校正モードを選択する。この状態で、開口部8に露出する固定化酵素膜15上に、マイクロビペット(図示せ

ず)等を用いて、標準液(グルコース濃度200 mg/dl)を滴下し、測定ボタン6aを押す。この時の電極出力に基づいて、CPU19が校正処理を行う。なお、この実施例では、電極出力変化開始後10秒後の値を採用している。

次に、固定化酵素膜15上の標準液を拭き取り、モード切替ボタン5aを押して測定モードを選択する。そして、固定化酵素膜15上に洗浄用の緩衝液を滴下し、測定ボタン6aを押して、LCD13の表示が零になっていることを確認する。

固定化酵素膜15上の緩衝液を拭き取った後、試料を固定化酵素膜15上に滴下して、測定ボタン5aを押す。試料中のグルコース濃度は、LCD3に表示される。

グルコース濃度をLCD3より読み取った後、固定化酵素膜15上の試料を拭き取り、再び洗浄処理を行う。

酵素電極10が劣化してきた時には、保持部材7ごと新しいものに交換する。

なお、上記実施例では、酵素としてグルコース

オキシダーゼを固定化し、試料中のグルコース濃度を定量する構成としているが、他の酵素を用い、この酵素の基質となる生化学物質の定量を行うことが可能であり、適宜設計変更可能である。

(ト) 発明の効果

以上説明したように、この発明の生化学測定装置は、酵素電極は電極支持基材上に膜状に作用電極及び対照電極が形成され、これら作用電極及び対照電極が固定化酵素膜で一体に被覆されており、この酵素電極は、前記本体に着脱自在に設けられる保持部材に内蔵され、この保持部材には、少なくとも前記作用電極の感応部を露出させる開口部が設けられ、前記作用電極及び対照電極と前記定量手段とを電気的に接続するコネクタを前記本体に設けたことを特徴とするものであるから、以下に列記する利点を有している。

①作用電極、対照電極を固定化酵素膜が一体に被覆しており、両電極と固定化酵素膜との密着度が一定しており、測定精度が安定し再現性に優れた測定を行うことができる。また、酵素電極

交換後測定可能になるまでの時間が短い。

- ②酵素電極全体を交換するため、酵素膜のみの交換という煩雑な作業がなく、また作用電極、対照電極を傷つけることが少ない。酵素電極の交換は、保持部材の脱着で行えるため簡単である。
- ③この酵素電極は構造が簡単で量産容易であり、低価格で提供することができる。
- ④固定化酵素膜と、作用電極及び対照電極とが一体であるから、固定化酵素膜中に固定される酵素に最適な作用電極・対照電極を組み合わせて供給、交換することができる。

4. 図面の簡単な説明

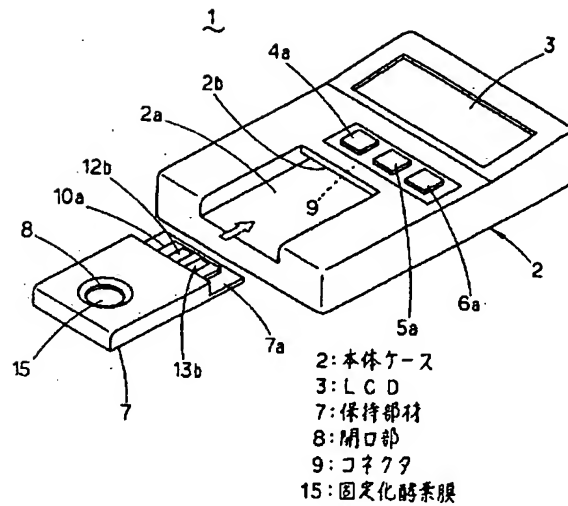
第1図は、この発明の一実施例に係る生化学測定装置の外観斜視図、第2図は、同生化学測定装置の保持部材の分解斜視図、第3図は、同生化学測定装置の要部縦断面図、第4図は、同生化学測定装置の酵素電極の第2図中IV-IV線における断面図、第5図は、同生化学測定装置の回路構成を説明するブロック図、第6図は、同生化学測定装置の酵素電極の特性を説明する図、第7図(a)及び

第7図(b)は、従来の生化学測定装置を説明する斜視図、第8図(a)及び第8図(b)は、それぞれ他の従来の生化学測定装置を説明する図である。

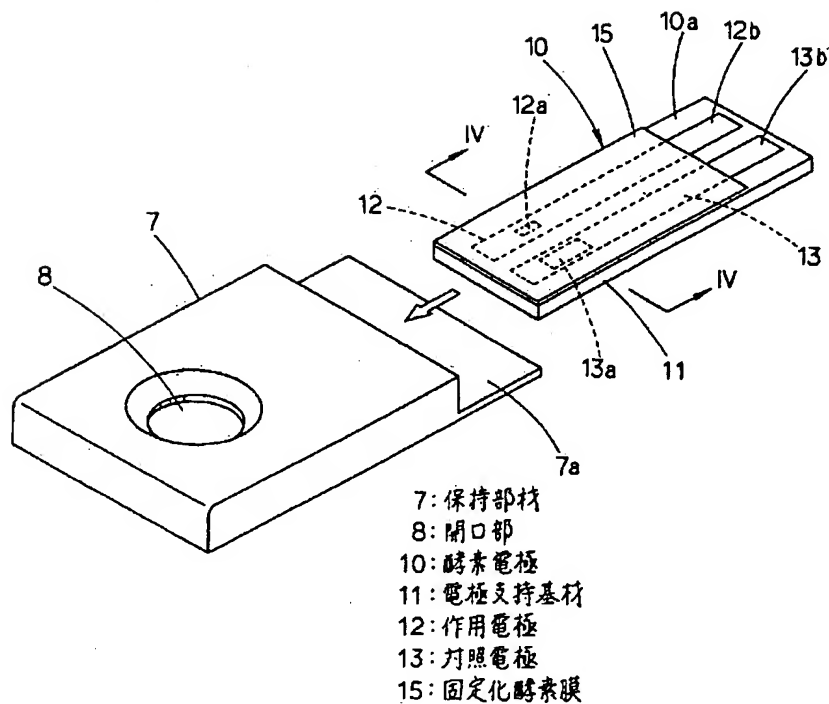
- | | |
|-------------|-------------|
| 2: 本体ケース、 | 3: LCD、 |
| 7: 保持部材、 | 8: 開口部、 |
| 9: コネクタ、 | 10: 酵素電極、 |
| 11: 電極支持基材、 | 12: 作用電極、 |
| 13: 対照電極、 | 15: 固定化酵素膜、 |
| 19: CPU。 | |

特許出願人 オムロン株式会社
代理人 弁理士 中村 茂 信

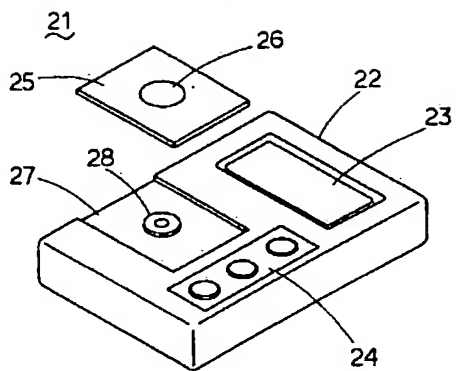
第 1 図



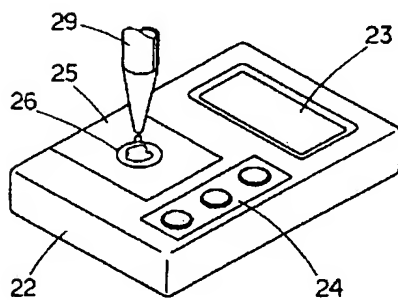
第 2 図



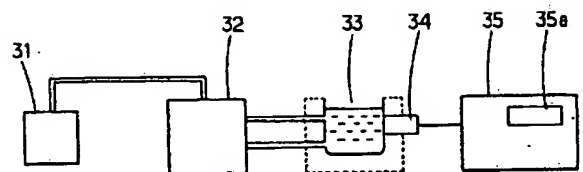
第 7 図 (a)



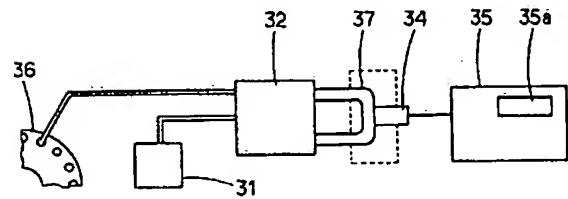
第 7 図 (b)



第 8 図 (a)



第 8 図 (b)



第 1 頁の続き

⑤Int. Cl. 5

// G 01 N 27/28

識別記号

3 3 1 D

庁内整理番号

7235-2G

7235-2G

G 01 N 27/30

3 5 3 J